Aus der I. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin-Neukölln
(Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack)
und
aus dem Institut für Haematologie der GSF, Assoziation mit
EURATOM München
(Leiter: Prof. Dr. W. Stich)

ÜBER DIE WIRKUNG DER RÖNTGENSTRAHLEN AUF DIE PROLIFERATION DES KNOCHENMARKS IN VITRO

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Detlef Heinze
aus Berlin

1971

Aus der I. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses

Berlin-Neukölln

(Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Helldack)

und

aus dem Institut für Haematologie der GSF, Assoziation mit

EURATOM München

(Leiter: Prof. Dr. W. Stich)

ÜBER DIE WIRKUNG DER RÖNTGENSTRAHLEN AUF DIE PROLIFERATION DES KNOCHENMARKS IN VITRO

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den Medizinischen Fachbereichen

der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Detlef Heinze

aus Berlin

Referent: Professor Dr. med. Irene Bell

Korreferent: Professor Dr. med. Helmut Ernst

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 15.März 1971

G L I E D E R U N G

A Literaturüberblick

B Fragestellung

C Methode

D Ergebnisse

a) Mitose-Indices
b) G/E-Index
c) karyologische Kurven
d) Reifungskurven

E Diskussion

F Zusammenfassung

G Literaturverzeichnis

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547205_0075

LITERATURÜBERBLICK

Schon im Beginn der Erforschung der Röntgenstrahlenwirkungen auf die Zellen waren an Zellkern ganz bestimmte Veränderungen als Folge der Bestrahlung aufgefallen. Die ersten diesbezüglichen Untersuchungen wurden von BOHN (1903) [3] und PERTHES (1904) [26] durchgeführt. Die der Bestrahlung ausgesetzten Kerne zeigten abnorme Teilungen.

POLITZER [27] fasste in seiner Monographie über die "Pathologie der Mitose" 1934 alle bis dahin auf diesem Gebiet bekannten Arbeiten zusammen. Danach bewirkt eine Bestrahlung eine schnelle Abnahme der Karyokinesen. POLITZER schloss, unter Berücksichtigung von Untersuchungsergebnissen von PEKAREK [25], HAMPERL [17], SCHWARZ [17] und DUSTIN [8], dass alle untersuchten Gewebe gleiche Reaktionen bezüglich der Mitosenhäufigkeit nach Röntgenbestrahlung zeigen.

Die Untersuchungen von JUUL und KEMP [19], die mit POLITZER's Beobachtungen weitgehend übereinstimmen, ergaben ausserdem folgendes: Nach Röntgenbestrahlung hängt der Grad der Mitoseverminderung von der applizierten Dosis ab. Je höher die Dosis, desto grösser ist die Verminderung eine Stunde nach der Bestrahlung.

Am Knochenmark fand HARTWEG [18] in vivo die ersten Veränderungen als Folge der Bestrahlung bei Mäusen an der Kernstruktur von Proerythroblasten, Myeloblasten und Promyelocyten durch eine Dosis von 100 r. Einen Abfall der Mitoseaktivität stellte ZAK [33] bei Einzeit-Ganzkörper-Bestrahlung von Mäusen bei einer Dosis von 100 r fest. Durch 1.000 r wurde das Knochenmark so stark gehemmt, dass eine Erholung nicht mehr erfolgte. Untersuchungen TÖPPNER's [30] an mit hohen Dosen bestrahlten Rattenknochen ergaben eine Herabsetzung der Mitosezahlen unmittelbar nach der Bestrahlung.

OSMOND, ROYLANCE, LEE, RAMSELL und YOFFEY [24] fanden an mit 150 r bestrahlten Meerschweinchen einen Abfall der Erythroblasten, speziell der polychromatischen und oxyphilen, eine Verminderung der weissen Vorstufen und einen Abfall der Lymphocyten. Eine Erholung zeigte das bestrahlte Mark erst nach ca. 10 bis 16 Tagen.

Strahlendosen bis 200 r führten in BAUER's [2] Tierversuchen an Kaninchen bei Teilbestrahlungen zu keinen Veränderungen der histologischen Struktur der Knochenmarkzellen. Höhere Dosen verursachten einen Zellzerfall. Er bestrahlte Oberschenkel von Kaninchen mit einmalig applizierten Dosen von 500 r. Dabei zeigte sich, dass die ersten Reaktionen in der roten Zellreihe auftraten. Es kam zu einem dosisabhängigen Abfall der Zellzahl in dieser Reihe. Diesem Abfall folgte sehr schnell eine Erholungsphase, deren Dauer von der applizierten Dosis abhängig war. Die Veränderungen in der weissen Reihe waren prinzipiell gleich, allerdings zeigten die weissen Zellen erst dann eine Reaktion, wenn schon ein erheblicher Einfluss auf das rote Zellsystem festgestellt werden konnte. Bemerkenswert ist, dass sich die Erholungsformen beider Systeme nach der Bestrahlung nicht glichen. Während die rote Reihe schwerste Schäden rasch ausglich, war die Regeneration im granulopoetischen System deutlich verlangsamt. Ältere Autoren wie MILCHNER und MOSSE [21], KRÖMECKE [20], SIZILIANO und BOUNAMICI [29], FROLA [14] und WÜNSCHE [32] fanden bei ihren Versuchen die weisse Reihe strahlensensibler als die rote.

FLIEDNER und STODTMEISTER [10,11,12] beschreiben in einer Zusammenfassung von in vivo-Ergebnissen beim Menschen, bei der sie u.a. Ergebnisse von BOND, CRONKITE und ANDREWS berücksichtigten, atypische Mitosefiguren und polyploide Kerne im Knochenmark als Folge der Bestrahlung. Ihre Untersuchungen ergaben ebenfalls eine proportionale

Abhängigkeit der Zahl der Zelluntergänge von der applizierten Dosis. Besonders die Erythropoese war von diesem Zellverlust betroffen.

Bei in vitro-Bestrahlungen des Knochenmarks fand GREGORI (15) die Knochenmarkzellen bedeutend strahlenresistenter als in vivo.

ASTALDI, MAURI und GUGLIELMO (1) stellten bei Bestrahlungen mit 50 r einen deutlich hemmenden Effekt auf die Mitosehäufung in Knochenmarkkulturen fest, wenn die Mitosen durch den Blocker Colchicin angereichert wurden. Eine Behinderung schon begonnener Mitosen durch Röntgenstrahlen sahen sie nicht. In später von BOLL und KOPPE (7) durchgeführten Versuchen traten erst bei Bestrahlungen mit 200 r fassbare Reaktionen im Mitoseablauf auf. Diese Wirkungsunterschiede sind ihrer Meinung nach methodisch.

In vitro-Untersuchungen von OSGOOD (22) über die Strahlenwirkung am menschlichen Knochenmark zeigten die Lymphocyten als strahlensensibler als die Promyelocyten. Das Verhältnis der Strahlenempfindlichkeit war sowohl bei der Dosis von 50 r als auch bei der Dosis von 400 r das gleiche.

Bei OSGOOD und BRACHER (23) ergab die fraktionierte Bestrahlung von menschlichem Knochenmark mit 2× 200 r den gleichen Effekt wie die Bestrahlung mit 400 r. Die Bestrahlung verhinderte sowohl die mitotische als auch die amitotische Teilung der Zellen.

In vitro-Versuche von RACHMILEWITZ, ROSIN, GOLDHABER und DOLJANSKI (28) an Kaninchenknochenmark decken sich mit BAUER's in vivo-Ergebnissen. Sie stellten an Knochenmarkkulturen bei sämtlichen benutzten Röntgendosen einen Mitoseabfall fest. Kulturen, die mit 250 und 500 r bestrahlt wurden, zeigten nach 4 Stunden eine Erholung der Mitoseaktivität. Bei Bestrahlungen mit 5.000 r waren keine Mitosen mehr vorhanden.

Die Beobachtungen BAUER's (2), dass sich die roten Vorstufen

gegenüber ionisierenden Strahlen in einer sehr labilen Reaktionslage befinden, wird durch Untersuchungen von KOPPE (7) bestätigt. Desgleichen erwies sich die Hemmung der Erythroblastenmitosen vorwiegend als vorübergehend. Dabei muss aber beachtet werden, dass diese Ergebnisse mehr über die stärkere Proliferationsfähigkeit der roten Reihe aussagen als über die Wirkung der Röntgenstrahlen, denn die Zeit der Entwicklung vom Erythroblasten zum Erythrocyten ist kürzer als die Zeit, die ein Myeloblast benötigt, um zum neutrophilen Segmentkernigen zu werden. Schon HALBERSTAEDTER (16) hatte darauf hingewiesen, dass die Sensibilität von Zellkulturen gegenüber schädigenden Einflüssen von deren Proliferationszustand abhängig ist. Durch die fehlenden Reserven wird die stärkere Proliferation des erythropoetischen Systems erklärt.

BOLL, KOPPE, SCHAAF und TRAUTMANN (7) bestrahlten Knochenmarkkulturen vor der Massivbestrahlung von 200 bis 1.000 r mit kleinen Röntgendosen von 3 x 10 r. Morphologisch zeigten sich keine deutlichen Veränderungen. Beide Reihen wiesen bei den höheren Dosen eine Miteseverminderung auf. Nach Bestrahlung mit 1.000 r waren die meisten unreifen Formen der Erythropoese verschwunden. Während sich in den unbestrahlten Kulturen hauptsächlich Prophasen, frühe und späte Metaphasen fanden, überwogen in den bestrahlten Kulturen die Endphasen. Die Miteseverhinderung durch Massivbestrahlung konnte durch Vorbestrahlung mit kleinen Dosen abgeschwächt werden.

Bei weiteren Untersuchungen von Knochenmarkkulturen von BOLL (5) zeigten sich bei mit 5.000 r bestrahlten Kulturen starke Beweglichkeiten der Granulocyten. Schäden durch die Bestrahlung traten an den Ruhekernen von ortho- und polychromatischen Erythroblasten sowie von Promyelocyten und Myelocyten auf.

Die Ergebnisse der Untersuchungen über den Einfluss der Röntgenstrahlen auf das Knochenmark stützen sich also sowohl auf in vivo- als auch auf in vitro-Befunde. Bei den in vitro-Untersuchungen liegt der Vorteil in exakteren Ausgangsbedingungen, denn es kann die direkte Strahlenwirkung auf die Zelle ohne Zwischenschaltung der unkontrollierbaren humoralen und nervösen Faktoren beurteilt werden. Ausserdem können gleiche Markproben Röntgendosen unterschiedlicher Intensität ausgesetzt werden. Der Nachteil der in vitro-Untersuchungen gegenüber in vivo-Verhältnissen besteht darin, dass der Beobachtungsdauer Grenzen gesetzt sind, denn man kann das Knochenmark nur 2 bis 3 Tage untersuchen, ehe es entdifferenziert.

FRAGESTELLUNG

Die vorliegenden Ergebnisse über die in vitro-Wirkung von Röntgenstrahlen auf die Zellen des Knochenmarks lassen zwar Rückschlüsse auf die Regeneration, jedoch nicht auf die Reifung in der Erythropoese und Granulopoese zu. Deshalb soll mit dieser Arbeit durch Differentialzählungen weiterer Aufschluss über die direkte Beeinflussung des Knochenmarks durch Röntgenstrahlen gewonnen werden. Inwieweit es unter dem Einfluss von Röntgenstrahlen zu einer Reifungsbeschleunigung oder Reifungsverzögerung sowohl in der Erythropoese als auch in der Granulopoese kommt, versucht diese Arbeit zu erfassen. Die sicher mitzuhemmende aber noch nicht morphologisch-cytotoxische Dosis von 400 r wurde für alle Versuche verwandt. Zunächst angesetzte Versuche mit 500 und 1.000 r liessen eine Zählung der Zellen nicht mehr zu, da das Präparat fast nur noch aus Detritus, d.h. aus Gewebstrümmern zerfallener Zellen bestand. Weiter können die Ergebnisse Einblick in die Kinetik des menschlichen Knochenmarks gewähren, denn die Frage ist noch nicht geklärt, ob die

Reifung in der Erythropoese und Granulopoese unabhängig von der Regeneration ist oder ob zur Erreichung der nächsten Reifungsstufe eine Mitose durchlaufen werden muss. Nach BOLL und FUCHS [13] wird die Interkinese durch die Bestrahlung verlängert.

Die Beurteilung von Reifung und Regeneration wurde in dieser Arbeit anhand von Reifungskurven der Kulturen bis 72 Stunden, von Mitose- und G/E-Indices sowie von karyologischen Kurven durchgeführt.

METHODE

Die Knochenmarkkulturen wurden von Sternalpunktaten angefertigt und nach der CARREL'schen Methode, modifiziert von BOLL und FUCHS [6], überlebend gehalten. Als Nährboden wurde eine Mischung aus Cerhormon (10 %), Hank'scher Lösung (40 %) und Eigenplasma (50 %) verwendet. Je ein Tropfen dieser Mischung, auf mehrere Deckgläschen gebracht, bildete ein Koagulum, auf das ein Knochenmarkbröckel gesetzt, mit Eigenserum bedeckt und mit einem Hohlschliffobjektträger und Paraffin luftdicht abgeschlossen wurde. Diese Kulturen, die die Kontrollkulturen darstellen, wurden unter Achtung der Kautelen der Sterilität angesetzt, anschliessend in einen Brutschrank bei 37° C inkubiert und nach 24, 48 und 72 Stunden Ausstriche angefertigt. Diese Ausstriche wurden luftgetrocknet und mit May-Grünwald und Giemsa nach Pappenheim gefärbt. Gleichzeitig wurde ein Originalausstrich des Sternalpunktates mitgefärbt.

Einige Knochenmarkbröckel des Sternalpunktates, in Hank'scher Lösung (10,0 ml) und Heparin (0,03 mg %) aufgefangen, wurden auf einen Hohlschliffobjektträger aus PVC gegeben, mit Serum und Hank'scher Lösung bedeckt, mittels Deckgläschen und Paraffin luftdicht verschlossen und möglichst schnell zur Bestrahlung gebracht. Die Bestrahlung erfolgte mit Röntgenstrahlen mit einer Energie von 33 meV und einer Dosisleistung von 70 rad/min. Bestrahlungsgerät war ein Betatron, das mit einer Ionisationskammer als Vergleichsmesseinrichtung geeicht worden war.

Die einzelnen Präparate wurden mit 400 rad bestrahlt. Aus bekannten Tiefendosiskurven wurde der Bestrahlungsabstand ermittelt. Bei einer Vorschaltschicht von Plexiglas lag das Dosismaximum von 400 rad in 5 cm Tiefe. Nach der Bestrahlung wurden die Knochenmarkbröckel ebenfalls auf ein Koagulum wie oben gebracht, nach 24, 48 und 72 Stunden ausgestrichen und nach Pappenheim gefärbt. Von den technisch besten Ausstrichen der Kontrollpräparate und der bestrahlten Präparate wurden mindestens 1.000 Zellen ausgewertet.

Die rote Reihe wird wie folgt differenziert:

Proerythroblast

basophiler Erythroblast

polychromatischer Erythroblast

oxyphiler Erythroblast

reifer Erythroblast, von denen mit Ausnahme der reifen alle als teilungsfähig betrachtet werden.

Bei der weissen Reihe unterscheidet man:

Myeloblast

Promyelocyt

neutrophiler Myelocyt

eosinophiler Myelocyt

basophiler Myelocyt

Metamyelocyt (neutroph. jugendl. Granulocyt)

neutrophiler segmentkerniger Granulocyt

eosinophiler segmentkerniger Granulocyt

basophiler segmentkerniger Granulocyt, von denen Myeloblasten, Promyelocyten, Myelocyten und Metamyelocyten als teilungsfähig gelten.

In der Entwicklungsreihe der Erythropoese stellt der Proerythroblast (15-20 µ Durchmesser) die jüngste Zelle dar. Der Kern zeigt ein lockeres Chromatingerüst und besitzt einen oder mehrere Kernkörperchen. Der schmale Protoplasmasaum ist tiefblau gefärbt und hat eine peri-

nukleäre Aufhellung.

Der Kern des basophilen Erythroblasten (8-15 µ Durchmesser), der eine grobschollige Struktur aufweist, lässt oft ein radspeichenähnliches Bild entstehen. Das Cytoplasma ist dunkelblau.

Mit der Hämoglobineinlagerung beim polychromatischen Erythroblasten (8-12 µ Durchmesser) ist eine Schrumpfung des Kernes und eine Verschiebung des Farbtons des Cytoplasmas ins rötliche und blaue verbunden.

Der oxyphile Erythroblast (7-10 µ Durchmesser) weist eine verdichtete Kernstruktur und ein Plasma auf, das hinsichtlich der Farbe der des Erythrocyten gleicht.

Im reifen Erythroblasten (7-10 µ Durchmesser) ist der Kern pyknotisch und liegt exzentrisch. Das Plasma entspricht dem des polychromatischen bzw. oxyphilen Erythroblasten.

Die jüngste Zelle der Granulopoese ist der Myeloblast (10-16 µ Durchmesser). Der Kern ist durch ein feines, netzförmiges Chromatingerüst mit meist mehreren Nukleolen gekennzeichnet, das Protoplasma durch einen basophilen Charakter ohne Granula.

Der Kern des Promyelocyten (16 µ Durchmesser) entspricht dem des Myelocyten, jedoch ist der basophile Plasmasaum verbreitert und weist deutliche azurophile Granula auf. Diese Zelle ist die grösste der Granulopoese.

Bei den Myelocyten (10-14 µ Durchmesser) lässt sich zwischen neutrophilen, eosinophilen und basophilen Formen unterscheiden. Der Kern ist weiter ausgereift, sein Chromatingerüst ist grobbalkig, Nukleolen sind verschwunden. Das Cytoplasma und die Granula färben sich oxyphil. In eosinophilen und basophilen Myelocyten färben sich die Granula eosinophil bzw. basophil.

Der Metamyelocyt besitzt einen stark eingebuchteten, wurstför-

migen Kern und unterscheidet sich sonst nicht vom Myelocyten.

Beim Stabkernigen nimmt der Kern eine schmale Hufeisenform an und zeigt bereits Einbuchtungen, die den Kern aber nicht weiter als 1/3 einbuchten. Das Chromatingerüst ist dichter als im Metamyelocyten.

Bei den Segmentkernigen (10μ Durchmesser) gehen die Einschnürungen so weit, dass nur noch fadenförmige Verbindungsstücke bestehen bleiben. Die Kerne bestehen dadurch aus 3-4 Segmenten. Dies ist meist bei neutrophilen segmentkernigen Granulocyten der Fall. Die eosinophilen und basophilen segmentkernigen, deren Kern im allgemeinen nur 2 Segmente aufweist, besitzen eosinophile bzw. basophile Granulationen.

Ausser der Differenzierung der einzelnen Zellformen wurden auch die verschiedenen Mitosephasen abgegrenzt:

1. Prophase: Die Nukleolen sind verschwunden, die Kernmembran löst sich auf. Die Chromosomen bilden ein festes Spirem.
2. Frühe Metaphase: Lockeres Spirem, die Chromosomen verteilen sich über die ganze Zelle.
3. Späte Metaphase: Die Chromosomen liegen in der Aquatorialebene, es entsteht der Mutterstern oder Monaster.
4. Anaphase: Die Chromosomen trennen sich völlig und bewegen sich gegen die Zellpole. Es entsteht ein Diaster.
5. Telophase: Das Plasma schnürt sich ein, die Chromosomen bilden ein lockeres Dispirem.
6. Rekonstruktionsphase: Die Kerne der durch Cytoplasmateilung entstandenen 2 Zellen sind noch nicht wieder rekonstruiert- festes Dispirem.

Mittels der Zählungen wurden sowohl für die Erythropoese als auch für die Granulopoese Reifungskurven, karyologische Kurven und Kurven der Mitose-Indices sowie eine Tabelle der G/E-Indices aufgestellt. Die Reifungskurven stellen die prozentuale Verteilung der Zellreifungs-

stufen in der Zeiteinheit dar, die karyologischen Kurven die der Mitosephasenverteilung. Das relative Verhältnis der Granulopoese zur Erythropoese gibt der G/E-Index wieder. Die Mitose-Indices werden in Promille ausgedrückt.

ERGEBNISSE:

Von folgenden Patienten wurde das Knochenmark bestrahlt und untersucht:

FALL 1 : Patient B., H. geb. 13.8.1929. Einweisung: 7.9.1967

Diagnose: Skelet-Tuberkulose

Knochenmarkdiagnose: Stark angeregte Granulopoese

Therapie bis zur Sternalpunktion (27.9.1967):

Baralgin^{R}	Morphin^{R}
Binotal^{R}	Paraxin^{R}
Cliradon^{R}	Polamidon^{R}
Comital^{R}	Tanderil^{R}
Dolantin^{R}	Tutofusin^{R}
Dominal^{R}	

Blutbild vom 27.9.1967:

Erythrocyten	3,41 Mill./mm^3
Hämoglobin	8,6 g %
HbE	25,3 pg
Leukocyten	9.800/mm^3
Bas.	1 %
Eos.	1 %
Stabk.	10 %
Segm.	80 %
Lymph.	7 %
Mono.	1 %

FALL 2 : Patient H., W. geb. 27.10.1897.

Einweisung: 3.7.1967

Diagnose: Pyelonephritische Schrumpfnieren beiderseits.
Verdacht auf Urämie. Hochgradige Anämie.

Knochenmarkdiagnose: Entzündliches Reizmark

Therapie bis zur Sternalpunktion (5.7.1967):

Cordalin^{R}

Novalgin^{R}

Tutofusin^{R}

Vitamin B_{12}

Blutbild vom 4.7.1967:

Erythrocyten	1,87 Mill./mm^3
Hämoglobin	6,0 g %
HbE	31,0 pg
Leukocyten	11.500/mm^3
Bas.	1 %
Stabk.	2 %
Segm.	83 %
Lymph.	10 %
Mono.	1 %
AMZ	3 %
Thromb.	156.000/mm^3
Reticuloc.	59 %
Rest-N	110,20 mg %

Fall 3 : Patient N.W. geb. 1902

Diagnose: Cholelithiasis

Knochenmarkdiagnose: Gut ausgereiftes Knochenmark

FALL 4 : Patient N., W. geb. 28.1.1879

Einweisung: 18.5.1967

Diagnose: Myocardschwäche. Diabetes mellitus. Arterielle Durchblutungsstörungen. Ausgeprägte Gefäss- und Cerebralsklerose.

Knochenmarkdiagnose: Vermehrte Erythropoese

Therapie bis zur Sternalpunktion (24.5.1967):

Atosil^{R}

Complamin^{R}

Lävulose^{R}

Lanicor^{R}

Lasix^{R}

Nadisan^{R}

Blutbild vom 19.5.1967:

Erythrocyten	3,66 Mill./mm^3
Hämoglobin	13,2 g %
HbE	36,0 pg
Leukocyten	3.700/mm^3
Eos.	5 %
Metamyel.	1 %
Stabk.	9 %
Segm.	52 %
Lymph.	21 %
Mono.	5 %
AMZ	7 %

FALL 5 : Patient SCH., O. geb. 3.4.1898

Einweisung: 14.6.1967

Diagnose: Pancreascarcinom mit Metastasen

Knochenmarkdiagnose: Angeregte Erythro- und Granulopoese

Therapie bis zur Sternalpunktion (28.6.1967):

Binotal^{R}

Dosulfin^{R}

Ferrlecit^{R}

Lanicor^{R}

Terramycin^{R}

Blutbild vom 15.6.1967:

Erythrocyten	3,92 Mill./mm^3
Hämoglobin	10,7 g %
HbE	27,0 pg
Leukocyten	18.000/mm^3
Eos.	15 %
Stabk.	21 %
Segm.	46 %
Lymph.	4 %
Mono.	2 %
AMZ	12 %
Thromb. vom 19.6.1967	154.000/mm^3

FALL 6 : Patient V., A. geb. 16.2.1911

Einweisung: 7.8.1967

Diagnose: Myodegeneratio cordis bei Zustand nach mehreren Herzinfarkten mit Linksinsuffizienz.
Alkoholabusus.

Knochenmarkdiagnose: Normale Erythro- und Granulopoese

Therapie bis zur Sternalpunktion (16.8.1967):

Dilcoran^{R}

Distraneurin^{R}

Effortil^{R}

Lanicor^{R}

Valium^{R}

Blutbild vom 7.8.1967:

Erythrocyten	5,27 Mill./mm^3
Hämoglobin	16,3 g %
HbE	31,0 pg
Leukocyten	10.300/mm^3
Eos.	1 %
Metamyel.	1 %
Stabk.	1 %
Segm.	28 %
Lymph.	63 %
Mono.	2 %
AMZ	4 %
Thromb.	256.000/mm^3

FALL 7 : Patient W., M. geb. 14.1.1911

Einweisung: 2.8.1967

Diagnose: Chronische hypertrophische Gastritis

Knochenmarkdiagnose: Normale Erythro- und Granulopoese

Therapie bis zur Sternalpunktion (9.8.1967):

Mixt. peps.

Lanicor^{R}

Blutbild vom 3.8.1967:

Erythrocyten	4,97 Mill./mm^3
Hämoglobin	15,5 g %
HbE	31,2 pg
Leukocyten	4.700/mm^3
Bas.	1 %
Eos.	3 %
Stabk.	2 %
Segm.	44 %
Lymph.	45 %
Mono.	3 %
AMZ	2 %

TABELLE A

MITOSE-INDICES der Erythropoese in ‰:

	Original-	Kontrollen			400 r		
	ausstrich	24	48	72	24	48	72 Stunden
Fall 1	17,9	-	-	-	-	-	-
Fall 2	13,0	-	-	-	-	-	-
Fall 3	24,4	7,7	-	-	-	-	-
Fall 4	21,8	-	14,5	-	-	-	-
Fall 5	26,0	21,9	16,1	-	-	-	-
Fall 6	12,0	5,03	-	-	-	-	-
Fall 7	17,0	23,8	-	-	-	-	-
Arithmetisches Mittel	18,86	8,33	4,37	-	-	-	-

TABELLE B

MITOSE-INDICES der Granulopoese in ‰ :

	Original-	Kontrollen			400 r		
	ausstrich	24	48	72	24	48	72 Stunden
Fall 1	15,4	9,25	-	-	6,05	-	-
Fall 2	8,2	25,8	2,4	2,2	3,04	-	-
Fall 3	14,8	4,2	-	2,9	-	3,0	5,1
Fall 4	16,0	-	6,4	-	-	12,0	-
Fall 5	20,0	8,7	5,2	-	4,3	-	-
Fall 6	17,0	2,2	2,4	14,0	-	4,0	-
Fall 7	25,8	25,7	12,3	4,9	-	4,25	-
Arithmetisches Mittel	16,74	10,84	4,1	3,4	1,91	3,32	0,7

TABELLE C

G/E-INDICES:

	Original-ausstrich	Kontrollen 24	48	72	400 r 24	48	72 Stunden
Fall 1	4,5	3,2	5,95	16,0	5,4	4,2	41,0
Fall 2	2,1	1,2	1,8	2,9	0,85	1,13	2,65
Fall 3	1,55	0,5	1,5	1,6	0,67	1,5	1,4
Fall 4	1,4	1,3	0,6	0,64	0,6	1,4	2,3
Fall 5	5,2	1,45	1,09	2,7	1,5	2,04	2,7
Fall 6	2,0	1,4	1,34	2,1	1,58	1,7	4,0
Fall 7	1,84	0,75	1,12	1,45	1,0	2,0	4,5
Arithmetisches Mittel	2,66	1,4	1,91	3,91	1,76	2,0	8,37

Bei der Betrachtung der Mitose-Indices der Erythropoese fanden sich nur in 4 der 7 Fälle (3,5,6,7) in den unbestrahlten 24-Stunden-Präparaten Mitosen, die gegenüber dem Originalausstrich vermindert sind (Tab. A). In den 48-Stunden-Kontrollen liessen sich nur in 2 Fällen (4,5) Mitose-Indices errechnen. Sowohl in den 72-Stunden-Kontrollen als auch in sämtlichen bestrahlten Kulturen fanden sich keine Mitosen bei den Erythroblasten.

Die Mitose-Indices der Granulopoese (Tab. B) lagen in sämtlichen bestrahlten 24-Stunden-Präparaten unter denen der Kontrollen. 4 Fälle (3,4,6,7) ergaben keinen Mitose-Index, desgleichen die Kontrolle von Fall 4. In den bestrahlten 48-Stunden-Präparaten lagen die Werte in 3 Fällen (3,4,6) über denen der Kontrollen, während 3 Fälle (1,2,5) keine Mitosen aufwiesen. Die Kontrollen zeigten in 2 Fällen (1,3) keine Mitosen. Nach 72 Stunden liess sich nur noch in einem Fall ein Index errechnen, dessen Wert über dem der Kontrolle lag, bei denen aber in 4 Fällen Mitosen gefunden wurden.

Zusammengefasst ergibt sich folgendes: In der Erythropoese fänden sich in allen bestrahlten Kulturen keine Mitosen, sodass hier ein Mitose-Index nicht zumermitteln war. In der Granulopoese waren die Mittelwerte der Mitose-Indices aller Fälle in den bestrahlten Kulturen niedriger als in den Kontrollen.

Eine Aussage über das Vorkommen von zweikernigen Zellen kann nicht gemacht werden, da wir in unseren Präparaten nur 18 mehrkernige Zellen fanden, von denen mehr in den unbestrahlten Kulturen vorkamen.

Der G/E-Index der Originalausstriche entspricht dem normalen Verhältnis. Bei einem Vergleich der Kontrollen mit den bestrahlten Präparaten liessen sich keine übereinstimmenden Veränderungen feststellen (Tab. C). Lediglich nach 72 Stunden sind die Erythroblasten in den bestrahlten Kulturen stärker reduziert.

Die Mitosephasenverteilung ist in den karyologischen Kurven zeichnerisch dargestellt. Bei dieser Darstellung wurden folgende Abkürzungen verwendet:

P = Prophase

FM = frühe Metaphase

SM = späte Metaphase

A = Anaphase

T = Telophase

R = Rekonstruktionsphase

In den bestrahlten Kulturen der Erythropoese fanden sich keine Mitosen, die unbestrahlten wiesen 15 Mitosen auf.

In der Granulopoese wurden aus 66 Mitosen, von denen 17 in den bestrahlten Kulturen auftraten, karyologische Kurven ermittelt, die trotz der kleinen Zahl graphisch dargestellt wurden. Eine Hemmung einer Mitosephase durch die Bestrahlung liess sich nicht erkennen. Das Fehlen der Prophasen kann auf ähnliche Veränderungen an den Ruhekernen zurückzuführen sein. Dass keine Anaphasen zu finden waren, lässt sich durch die geringe Zahl dieser Phasen in den Kontrollen erklären.

In den Abbildungen 1 und 2 stellen dar:

——————— = Kontrollkultur

_°_°_°_°_°_°_°_°_°_ = bestrahlte Kultur.

Aus den Knochenmarkkulturen wurden 52.000 Zellen differenziert, von denen jedoch nur 49.000 Zellen (7 Patienten) ausgewertet wurden. Das Knochenmark einer weiteren Patientin konnte nicht verwendet werden, da nur die 24-Stunden-Präparate zählbar waren.

ABB. 1

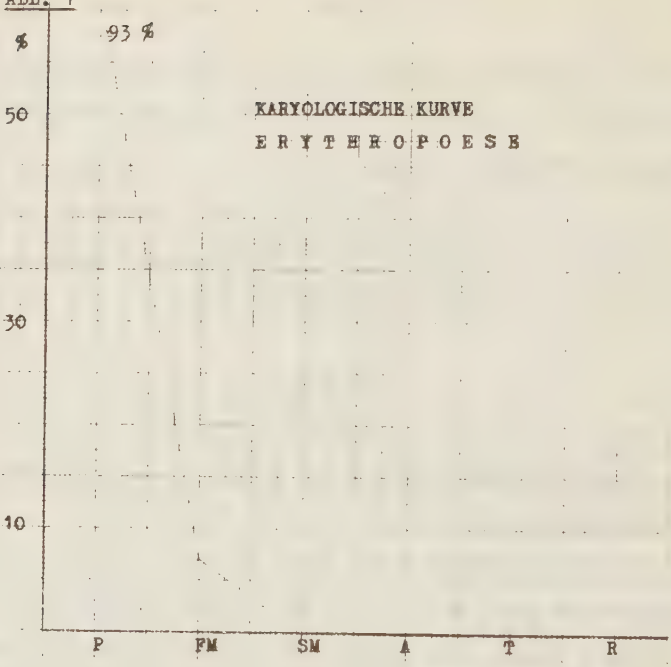
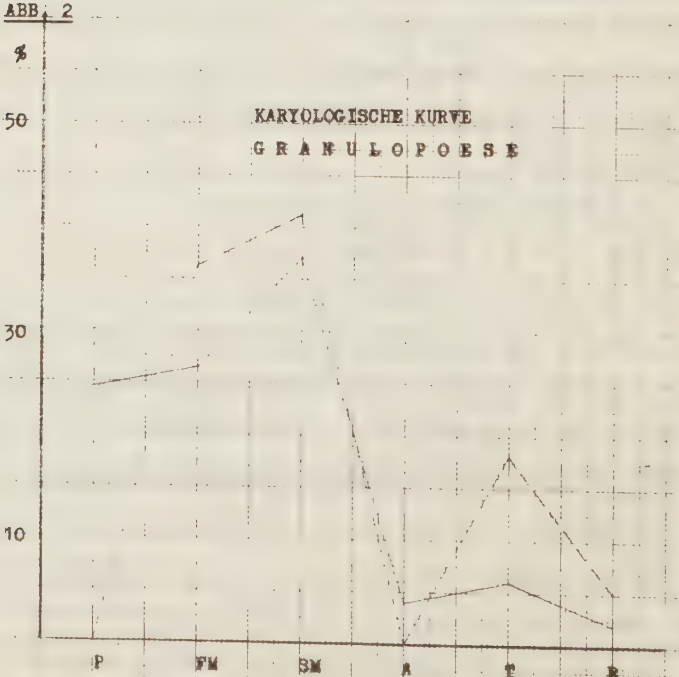

%
93 %
50
30
10
KARYOLOGISCHE KURVE
E R Y T H R O P O E S E
P
FM
SM
A
T
R

ABB. 2


%
50
30
10
KARYOLOGISCHE KURVE
G R A N U L O P O E S E
P
FM
SM
A
T
R

Bei der zeichnerischen Darstellung der Reifungskurven (Abb. 3 bis 16) wurden folgende Abkürzungen verwendet:

Für die Erythropoese: PE = Proerythroblast

bE = basophiler Erythroblast

pE = polychromatischer Erythroblast

oE = oxyphiler Erythroblast

rE = reifer Erythroblast.

Für die Granulopoese: MB = Myeloblast

P = Promyelocyt

NM = neutrophiler Myelocyt

EM = eosinophiler Myelocyt

J = neutrophiler jugendlicher Granulocyt (Metamyelocyt)

St = neutrophiler stabkerniger Granulocyt

NS = neutrophiler segmentkerniger Granulocyt

ES = eosinophiler segmentkerniger Granulocyt.

Weiterhin gelten folgende Zeichen:

———————— = Kontrollkulturen

---------- = Bestrahlte Kulturen.

Die Berechnung der Signifikanz erfolgte mit dem χ^2-Test nach HELMERT PEARSON. Die Signifikanz der roten Reihe beträgt bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 % und 5 differenzierten Zellformen 15, bei der weissen Reihe mit 8 Zellformen 20. Berechnet wurde nach folgendem Schema: $m = \frac{a + b}{2}$, wobei a der Zellzahl in den bestrahlten Kulturen und b der Zellzahl in den Kontrollkulturen entspricht. Die Signifikanz errechnet sich aus Δ^2/m, wobei $\Delta = a-m$ ist.

Bestanden zwischen den Summen von a und b grössere Differenzen als 20 %, so wurde der Faktor $\frac{a}{a + b}$ bestimmt, der dann mit der

Summe der einzelnen Zellarten multipliziert wurde. Dieser Faktor steht in den Tabellen D, E und F in Klammern.

Anzufügen wäre noch, dass der χ^2-Wert bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,1 % für die Erythropoese 20,5 und für die Granulopoese 26 beträgt.

ABB. 3

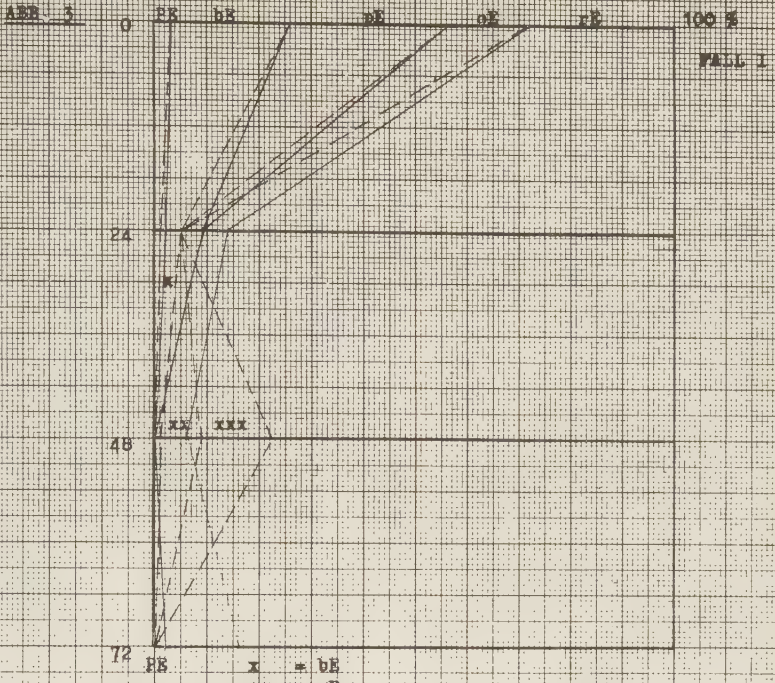

0
FE
bE
pE
oE
xE
100 %
FALL I
24
x
xx
xxx
48
72
Std.
x = bE
xx = pE
xxx = oE

ABB. 4

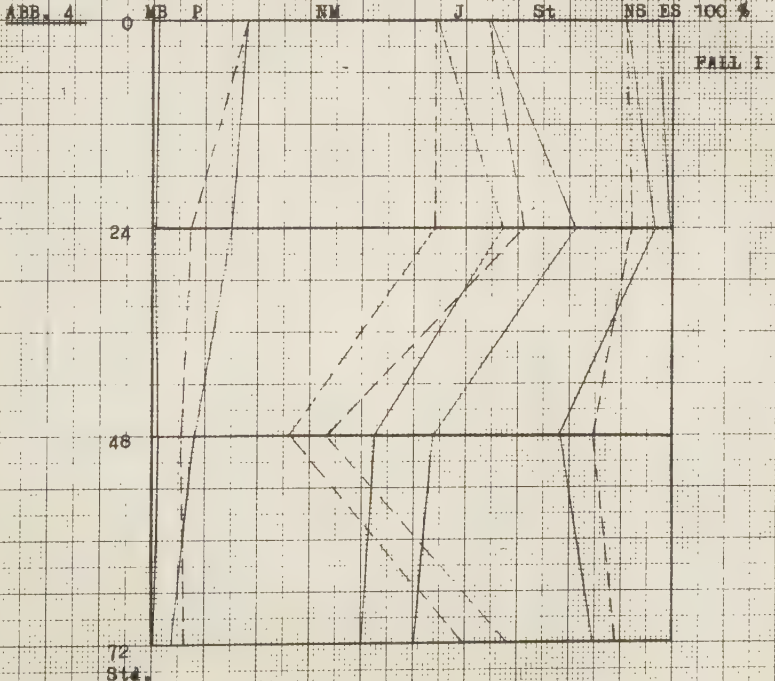

0
MB
P
NM
J
St
NS
ES
100 %
FALL I
24
48
72
Std.

ABB. 5

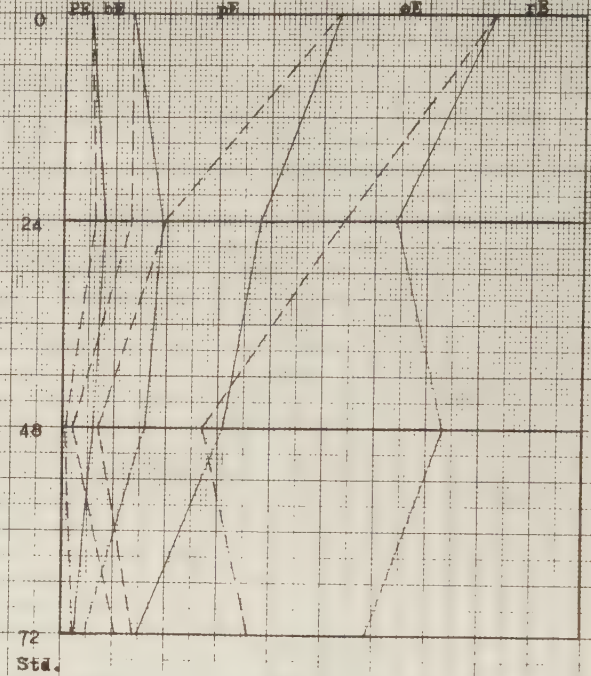

0
PE
eE
pE
aE
xE
100 %
FALL
24
48
72
Std.

ABB. 6

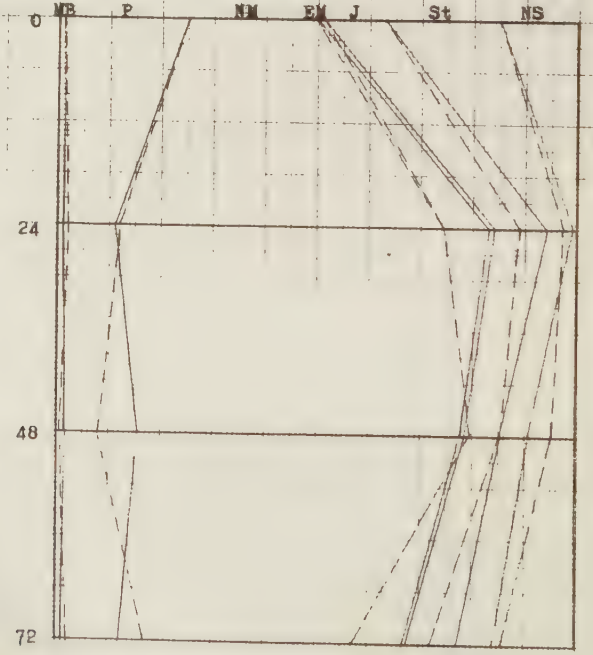

0
MB
P
NM
EM
J
St
NS
100 %
FALL
24
48
72
Std.

ABB. 7

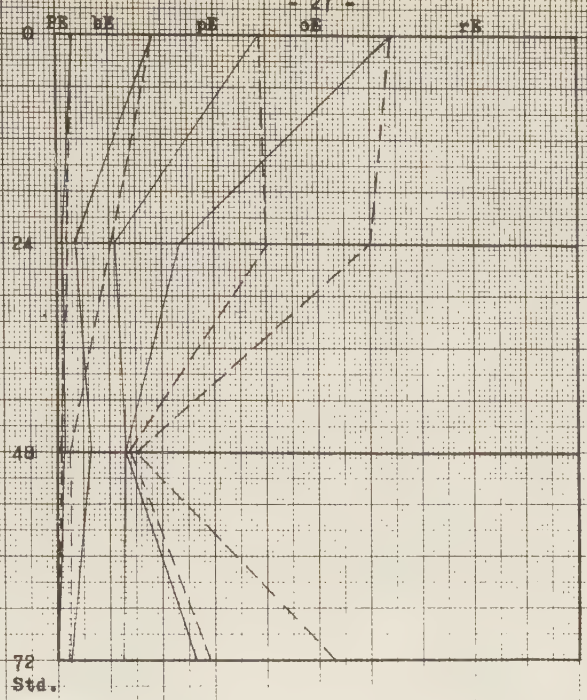

0
FE
gE
pE
sE
rE
100 %
FALL III
24
48
72
Std.

ABB. 8

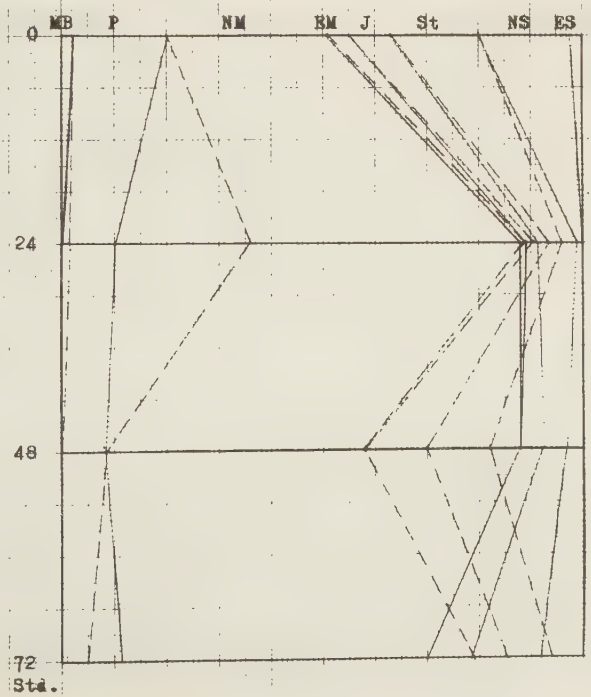

0
MB
P
NM
BM
J
St
NS
ES
100 %
FALL III
24
48
72
Std.

ABB. 9

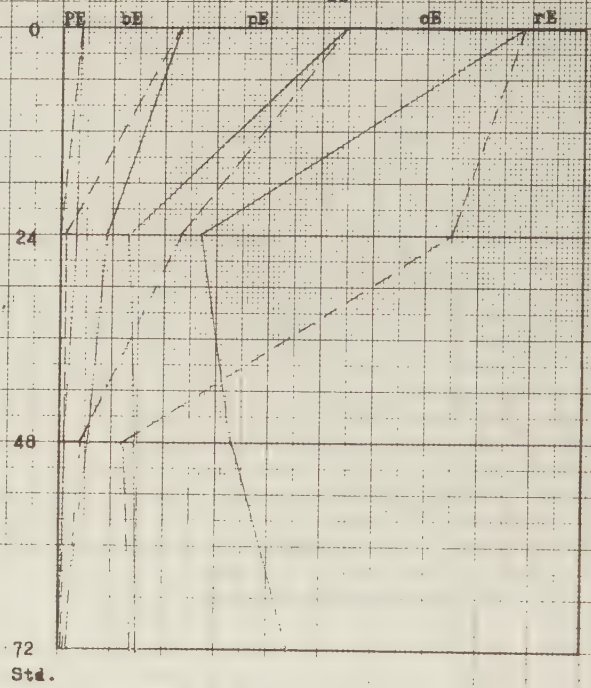

0
PE
bE
pE
oE
rE
100 %
FALL
24
48
72
Std.

ABB. 10

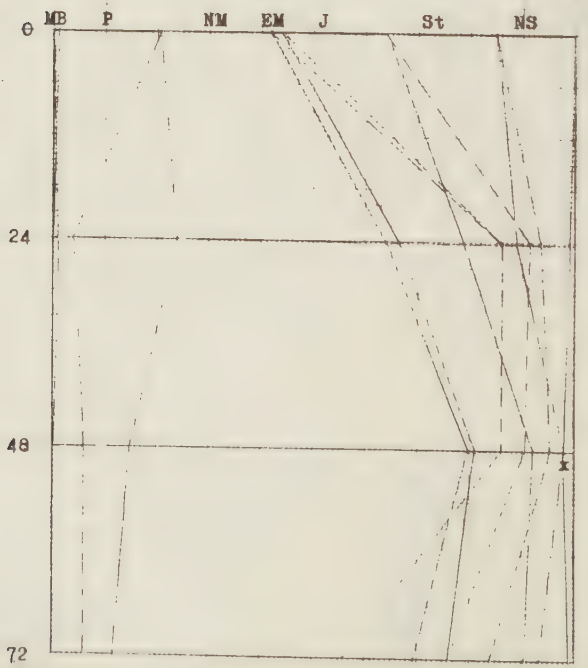

0
MB
P
NM
EM
J
St
NS
100 %
FALL T
24
48
x
72
Std.
x = ES

ABB. 11

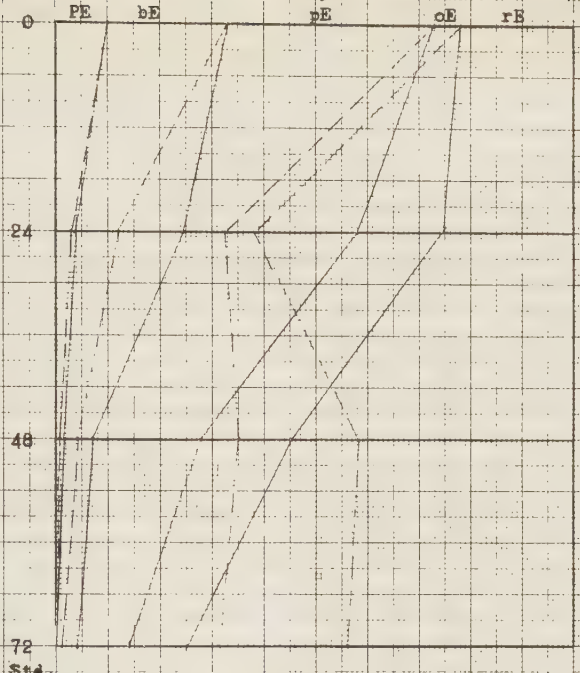

0
PE
bE
pE
oE
rE
100 %
FALL V
24
48
72
Std.

ABB. 12

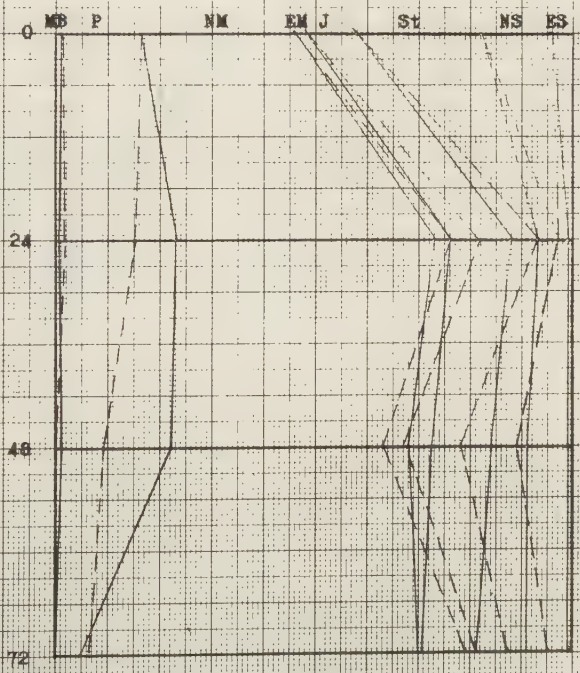

0
MB
P
NM
EM
J
St
NS
ES
100 %
FALL V
24
48
72
Std.

ABB. 13

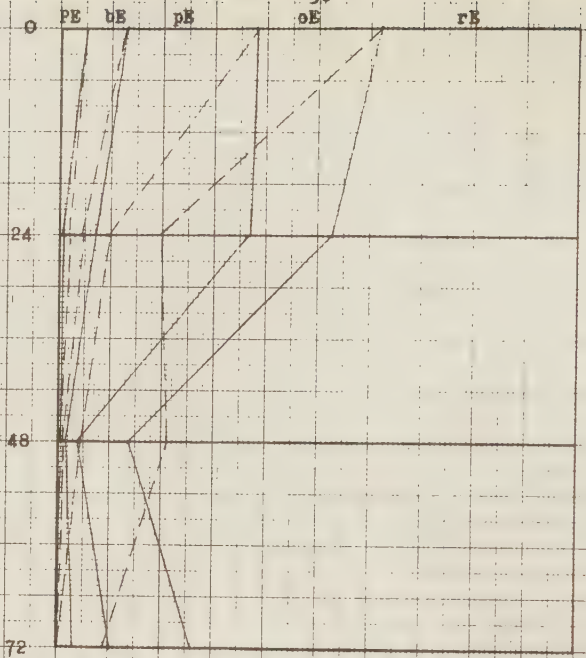

0
PE
uE
pE
oE
rE
100 %
FALL VI
24
48
72
Std.

ABB. 14

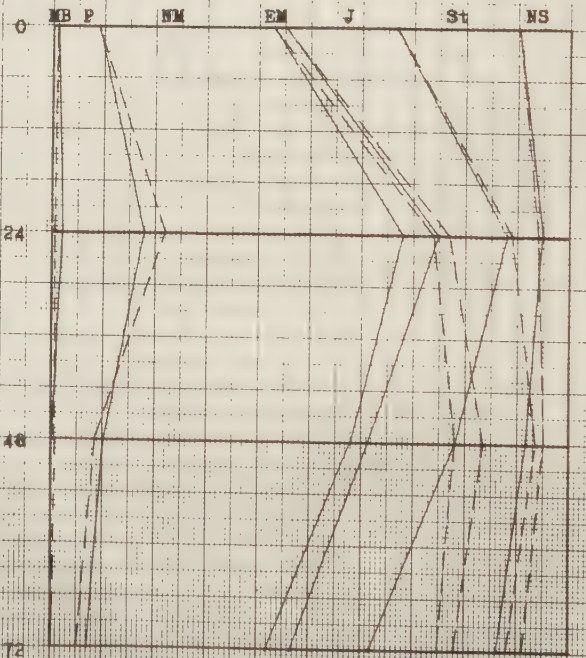

0
MB P
NM
EM
J
St
NS
100 %
FALL VI
24
48
72
Std.

ABB. 15

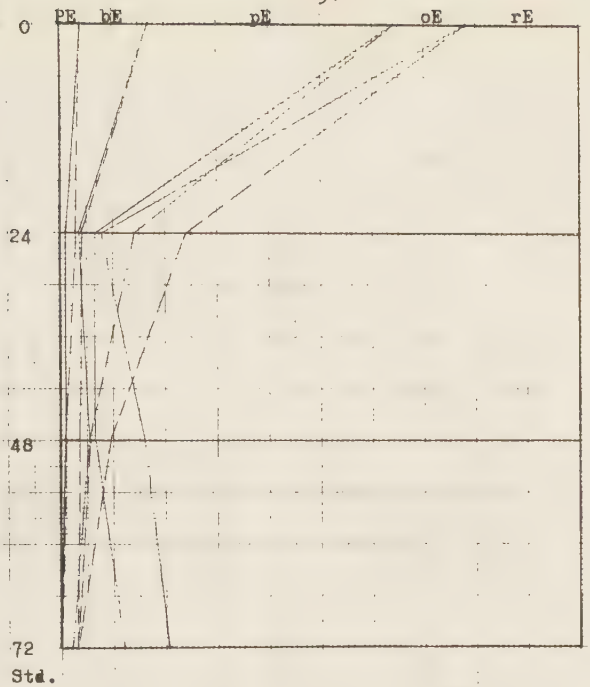

0
PE
bE
pE
oE
rE
100 %
FALL VII
24
48
72
Std.

ABB. 16

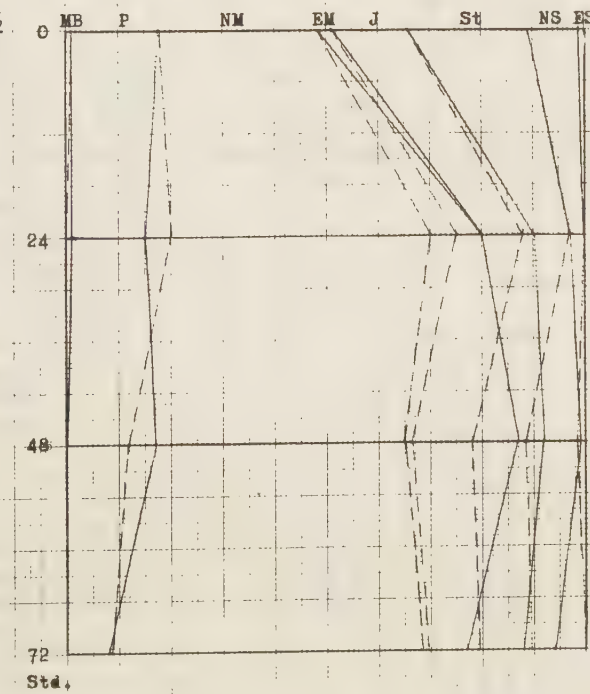

0
MB
P
NM
EM
J
St
NS
ES
100 %
FALL VII
24
48
72
Std.

TABELLE D

Fall 1: Patient B., H.

24 Stunden: Zelltyp	a	b	m (0,38)	Δ	Δ^1/m
PE	1	4	1,9	0,9	0,43
bE	5	15	7,6	2,6	0,89
pE	-	-	-	-	-
oE	-	8	3	3	3,00
rE	124	184	117	7	0,42
					$\chi^1 = 4,74$

48 Stunden: Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
PE	-	-	-	-	-
bE	2	-	1	1	1,00
pE	8	-	4	4	4,00
oE	21	10	16	5	1,60
rE	115	155	135	20	2,95
					$\chi^1 = 9,55$

72 Stunden: Zelltyp	a	b	m (0,28)	Δ	Δ^2/m
PE	-	1	0,28	0,28	0,28
bE	-	7	2,0	2,0	2,00
pE	-	-	-	-	-
oE	-	-	-	-	-
rE	20	43	17,5	2,5	0,35
					$\chi^2 = 2,63$

Fall 2: Patient H., W.

24 Stunden: Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
PE	21	32	27	6	1,33
bE	36	43	40	4	0,40
pE	28	69	49	21	9,00
eE	152	105	128	24	4,50
rE	200	136	168	32	6,10
					$\chi^2 = 21,33$

48 Stunden: Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
PE	1	17	9	8	7,10
bE	4	29	17	13	10,00
pE	16	43	30	14	6,50
eE	71	118	95	24	6,06
rE	265	76	170	95	53,10
					$\chi^2 = 82,76$

72 Stunden: Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
PE	5	5	5	-	-
bE	15	4	10	5	2,50
pE	6	20	13	7	3,80
eE	43	88	66	23	8,15
rE	130	87	109	21	4,05
					$\chi^2 = 18,50$

Fall 31 Patient N., W.

24 Stunden: Zelltyp	a	b	m	Δ	$\frac{\Delta^2}{m}$
PE	7	4	6	1	0,17
bE	40	15	28	12	5,14
pE	131	41	86	45	23,50
oE	90	71	80	10	1,26
rE	176	410	293	117	46,70
					$\chi^2 = 76,77$

48 Stunden: Zelltyp	a	b	m	Δ	$\frac{\Delta^2}{m}$
PE	-	4	2	2	2,00
bE	8	12	10	2	0,40
pE	33	18	26	7	1,88
oE	5	-	3	2	1,33
rE	266	218	242	24	2,38
					$\chi^2 = 7,99$

72 Stunden: Zelltyp	a	b	m	Δ	$\frac{\Delta^2}{m}$
PE	-	-	-	-	-
bE	7	7	7	-	-
pE	85	28	57	28	13,90
oE	76	39	58	18	5,60
rE	148	203	175	27	4,16
					$\chi^2 = 23,66$

Fall 4: Patient N., W.

24 Stunden:	Zelltyp	a	b	m (0,4)	Δ	Δ^2/m
	PE	-	14	5,6	5,6	5,60
	bE	2	28	12	10	8,33
	pE	70	17	35	35	35,00
	oE	162	66	91	71	55,30
	rE	76	338	165	89	48,25

$\chi^2 = 152,48$

48 Stunden:	Zelltyp	a	b	m (0,32)	Δ	Δ^2/m
	PE	-	6	1,9	1,9	1,90
	bE	2	24	8	6	4,50
	pE	8	53	19,6	11,6	6,88
	oE	20	124	46	26	14,70
	rE	242	362	194	48	11,90

$\chi^2 = 39,88$

72 Stunden:	Zelltyp	a	b	m (0,35)	Δ	Δ^2/m
	PE	-	-	-	-	-
	bE	1	5	2	1	0,50
	pE	3	70	25,5	22,5	20,25
	oE	34	146	63	29	13,30
	rE	218	267	170	48	13,55

$\chi^2 = 47,60$

Fall 5: Patient SCH., O.

24 Stunden: Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
PE	11	13	12	1	0,08
bE	33	73	53	20	7,55
pE	83	131	107	24	5,40
oE	22	59	41	19	8,80
rE	242	94	168	74	32,70

$\chi^2 = 54,53$

48 Stunden: Zelltyp	a	b	m (0,42)	Δ	Δ^2/m
PE	1	6	2,95	1,95	1,30
bE	16	21	15,6	0,4	0,10
pE	91	89	76	15	2,95
oE	71	70	59	12	2,44
rE	112	223	141	29	5,95

$\chi^2 = 12,74$

72 Stunden: Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
PE	-	1	0,5	0,5	0,50
bE	4	9	6,5	2,5	0,96
pE	72	23	48	24	12,00
oE	61	27	44	17	6,60
rE	105	178	142	37	9,65

$\chi^2 = 29,71$

Fall 6: Patient V., A.

24 Stunden: Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
PE	5	1	3	2	1,33
bE	9	26	18	9	4,50
pE	16	112	64	48	36,00
oE	31	56	44	13	3,84
rE	263	180	222	41	7,55

$\chi^2 = 53,22$

48 Stunden: Zelltyp	a	b	m (0,44)	Δ	Δ^2/m
PE	-	2	0,88	0,88	0,88
bE	2	1	1,32	0,68	0,35
pE	10	7	7,5	2,5	0,83
oE	52	43	42	10	2,38
rE	246	339	253	7	0,19

$\chi^2 = 4,63$

72 Stunden: Zelltyp	a	b	m (0,4)	Δ	Δ^2/m
PE	-	1	0,4	0,4	0,40
bE	-	8	3,2	3,2	3,20
pE	-	20	8	8	8,00
oE	15	45	24	9	3,40
rE	146	205	140	6	0,25

$\chi^2 = 15,25$

Fall 7: Patient W., M.

24 Stunden:	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
	PE	10	5	7,5	2,5	0,83
	bE	6	13	9,5	3,5	1,30
	pE	43	16	29	14	6,76
	eE	44	8	26	18	12,46
	rE	318	484	401	83	17,18
						$\chi^2 = 38,53$

48 Stunden:	Zelltyp	a	b	m (0,56)	Δ	Δ^2/m
	PE	3	2	2,8	0,2	0,01
	bE	7	10	9,5	2,5	0,65
	pE	5	2	3,9	1,1	0,31
	eE	10	20	16,8	6,8	2,75
	rE	280	204	248	32	4,13
						$\chi^2 = 7,85$

72 Stunden:	Zelltyp	a	b	m (0,36)	Δ	Δ^2/m
	PE	-	-	-	-	-
	bE	4	7	4	-	-
	pE	-	32	11,6	11,6	11,60
	eE	-	26	9,4	9,4	9,40
	rE	138	253	141	3	0,06
						$\chi^2 = 21,06$

TABELLE E

Fall 1: Patient B., H.

24 Stunden: Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
MB	2	1	2	-	-
P	48	96	72	24	8,00
NM	335	372	354	19	1,02
EM	-	-	-	-	-
J	111	71	91	20	4,40
St	151	113	132	19	2,75
NS	56	23	40	16	6,40
ES	-	-	-	-	-
					$\chi^2 = 22,57$

48 Stunden: Zelltyp	a	b	m (0,4)	Δ	Δ^2/m
MB	2	7	3,6	1,6	0,70
P	31	61	37	6	1,00
NM	129	336	186	57	17,40
EM	-	-	-	-	-
J	48	103	60	12	2,40
St	309	231	216	93	40,00
NS	104	218	129	25	4,80
ES	-	-	-	-	-
					$\chi^2 = 66,30$

72 Stunden: Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
MB	-	-	-	-	-
P	50	26	38	12	3,76
NM	440	293	366	74	15,40
EM	-	-	-	-	-
J	70	81	76	6	0,48
St	170	275	223	53	12,60
NS	90	124	107	17	2,70
					$\chi^2 = 34,94$

Fall 2: Patient H., W.

24 Stunden: Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
MB	8	5	6,5	1,5	0,35
P	38	46	42	4	0,38
NM	230	328	279	49	8,60
EM	-	4	2	2	2,00
J	53	43	48	5	0,52
St	31	20	26	5	0,96
NS	10	6	8	2	0,50
ES	-	-	-	-	-
					$\chi^2 = 13,31$

48 Stunden: Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
MB	4	6	5	1	0,20
P	28	68	48	20	8,30
NM	290	301	295	5	0,08
EM	-	5	2,5	2,5	2,50
J	21	32	27	6	1,33
St	43	26	35	8	1,83
NS	19	45	32	13	5,30
ES	-	-	-	-	-
					$\chi^2 = 19,54$

72 Stunden: Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
MB	10	4	7	3	1,30
P	80	68	74	6	0,49
NM	211	325	268	57	12,12
EM	3	2	3	-	-
J	79	59	69	10	1,45
St	70	49	60	10	1,66
NS	76	90	83	7	0,59
ES	-	-	-	-	-
					$\chi^2 = 17,61$

Fall 3: Patient N., W.

24 Stunden:	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
	MB	4	-	2	2	2,00
	P	104	27	66	38	21,90
	NM	160	202	181	21	2,44
	EM	5	2	4	1	0,25
	J	9	9	9	-	-
	St	6	20	13	7	3,80
	NS	11	1	6	5	4,15
	ES	-	-	-	-	-
						$\chi^2 = 34,54$

48 Stunden:	Zelltyp	a	b	m (0,56)	Δ	Δ^2/m
	MB	-	-	-	-	-
	P	43	32	42	1	0,02
	NM	239	296	300	61	12,40
	EM	-	-	-	-	-
	J	54	18	40	14	4,90
	St	56	18	41	15	5,50
	NS	87	12	55	32	18,60
	ES	-	-	-	-	-
						$\chi^2 = 41,42$

72 Stunden:	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
	MB	-	-	-	-	-
	P	25	51	38	13	4,40
	NM	336	263	300	36	4,32
	EM	-	-	-	-	-
	J	30	37	34	4	0,47
	St	37	61	49	12	2,95
	NS	27	37	32	5	0,92
	ES	-	-	-	-	-
						$\chi^2 = 13,06$

Fall 4: Patient N., W.

24 Stunden:	Zelltyp	a	b	m (0,25)	Δ	Δ²/m
	MB	2	-	0,5	1,5	4,50
	P	8	146	39	31	24,60
	NM	161	238	100	61	37,00
	EM	-	15	3,7	3,7	3,70
	J	10	75	21	11	5,80
	St	4	61	16	12	9,00
	NS	12	66	20	8	3,20
	ES	-	6	1,5	1,5	1,50
						$\chi^2 = 89,30$

48 Stunden:	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ²/m
	MB	-	-	-	-	-
	P	23	50	37	14	5,30
	NM	295	221	258	37	5,30
	EM	-	4	2	2	2,00
	J	17	38	28	11	3,96
	St	25	20	23	2	0,17
	NS	15	8	12	3	0,75
	ES	-	-	-	-	-
						$\chi^2 = 17,48$

72 Stunden:	Zelltyp	a	b	m (0,66)	Δ	Δ²/m
	MB	-	-	-	-	-
	P	37	39	50	13	3,40
	NM	302	176	315	13	0,53
	EM	3	20	15	12	9,60
	J	114	45	105	9	0,77
	St	48	10	38	10	2,62
	NS	101	17	78	23	6,80
	ES	3	3	4	1	0,25
						$\chi^2 = 23,97$

Fall 5: Patient SCH., O.

24 Stunden:	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
	MB	7	5	6	1	0,17
	P	68	115	92	24	6,25
	NM	307	257	282	25	2,20
	EM	25	15	20	5	1,25
	J	58	65	62	4	0,26
	St	20	29	25	5	1,00
	NS	13	30	22	9	3,70
	ES	2	3	3	1	0,33
						$\chi^2 = 15,16$

48 Stunden:	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
	MB	1	4	3	2	1,33
	P	56	94	75	19	4,80
	NM	318	210	264	54	11,00
	EM	21	18	20	1	0,05
	J	67	56	62	5	0,40
	St	65	27	46	19	7,85
	NS	63	38	51	12	2,85
	ES	2	2	2	-	-
						$\chi^2 = 28,28$

72 Stunden:	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
	MB	1	-	0,5	0,5	0,50
	P	59	30	45	14	4,35
	NM	470	425	448	22	1,08
	EM	11	8	10	1	0,10
	J	33	60	47	14	4,20
	St	57	61	59	2	0,07
	NS	41	59	50	9	1,62
	ES	4	3	4	-	-
						$\chi^2 = 11,92$

Fall 6: Patient V., A.

24 Stunden:	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
	MB	4	9	7	3	1,28
	P	110	85	98	12	1,46
	NM	264	257	261	3	0,03
	EM	21	37	29	8	2,20
	J	62	68	65	3	0,14
	St	24	39	32	8	2,00
	NS	19	29	24	5	1,00
	ES	6	2	4	2	1,00
						$\chi^2 = 9,11$

48 Stunden:	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
	MB	4	-	2	2	2,00
	P	42	53	43	1	0,02
	NM	384	253	318	66	13,70
	EM	30	15	23	7	2,10
	J	54	86	70	16	3,65
	St	6	73	40	34	28,90
	NS	26	40	33	7	1,50
	ES	-	6	3	3	3,00
						$\chi^2 = 54,87$

72 Stunden:	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
	MB	-	-	-	-	-
	P	31	39	35	4	0,46
	NM	440	202	321	119	44,10
	EM	20	21	21	1	0,05
	J	62	88	75	13	2,25
	St	19	144	82	63	48,50
	NS	57	79	68	11	1,80
	ES	2	5	4	2	1,00
						$\chi^2 = 98,16$

Fall 7: Patient W., M.

24 Stunden: Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
MB	-	3	1,5	1,5	1,50
P	87	46	67	20	6,00
NM	216	260	238	22	2,03
EM	21	-	11	10	9,10
J	57	40	49	8	1,30
St	30	35	33	3	0,27
NS	13	13	13	-	-
ES	-	-	-	-	-
					$\chi^2 = 20,20$

48 Stunden: Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
MB	-	-	-	-	-
P	72	96	84	12	1,71
NM	320	366	343	23	1,54
EM	9	-	5	4	3,20
J	69	26	48	21	9,20
St	63	40	51	12	2,82
NS	61	6	34	27	21,50
ES	9	2	6	3	1,50
					$\chi^2 = 41,47$

72 Stunden: Zelltyp	a	b	m (0,58)	Δ	Δ^2/m
MB	-	-	-	-	-
P	48	36	49	1	0,02
NM	370	308	394	24	1,46
EM	6	15	12	6	3,00
J	62	46	63	1	0,02
St	64	30	55	9	1,47
NS	74	27	58	16	4,40
ES	-	-	-	-	-
					$\chi^2 = 10,37$

ABB. 17

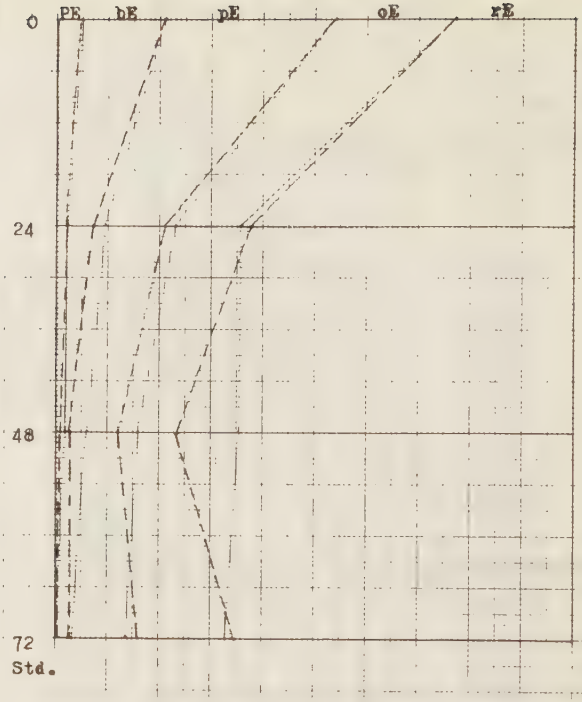

0
24
48
72
Std.
PE
bE
pE
oE
rE
100 %
Mittelwert-
kurve:
ERYTHROPOES

ABB. 18

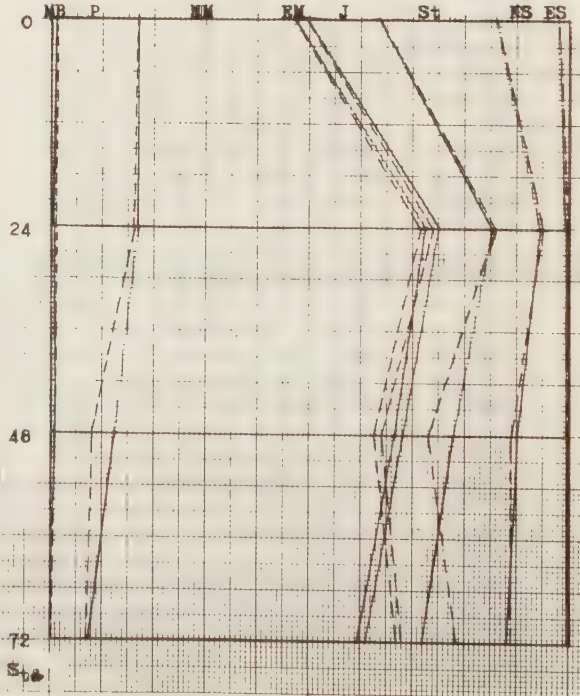

0
24
48
72
MB
P
MM
EM
J
St
ES
ES
100 %
Mittelwert-
kurve:
GRANULOPOES

TABELLE F

Erythropoese: Zusammenfassung aller Patienten (Abb. 17)

24 Stunden:	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
	PE	55	73	64	9	1,27
	bE	131	213	172	41	9,77
	pE	371	386	378	7	0,13
	oE	501	373	437	64	9,37
	rE	1399	1826	1613	214	28,64
						$\chi^2 = 49,18$

48 Stunden:	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
	PE	5	37	21	16	12,20
	bE	41	97	69	28	11,22
	pE	166	212	189	23	2,80
	oE	250	385	317	67	14,15
	rE	1526	1577	1551	25	0,40
						$\chi^2 = 40,77$

72 Stunden:	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
				(0,4)		
	PE	5	8	5	-	-
	bE	31	47	31	-	-
	pE	166	193	144	22	3,36
	oE	229	371	240	11	0,50
	rE	905	1236	856	49	2,80
						$\chi^2 = 6,66$

TABELLE G

Granulopoese: Zusammenfassung aller Patienten (Abb. 18)

24 Stunden:	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
	MB	27	23	25	2	0,16
	P	463	561	512	49	4,69
	NM	1673	1914	1794	121	8,20
	EM	72	73	73	1	0,01
	J	360	371	366	6	0,10
	St	266	317	292	26	2,31
	NS	134	168	151	17	1,92
	ES	8	11	10	2	0,40
						$\chi^2 = 17,79$

48 Stunden:	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
	MB	11	17	14	3	0,65
	P	295	454	375	80	17,06
	NM	1975	1983	1979	4	-
	EM	60	42	51	9	1,60
	J	330	359	345	25	1,81
	St	567	435	501	66	8,70
	NS	375	367	371	4	0,04
	ES	11	10	11	-	-
						$\chi^2 = 29,86$

72 Stunden:	Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
	MB	11	4	8	3	1,12
	P	330	289	310	20	1,32
	NM	2569	1992	2281	288	36,20
	EM	43	66	55	12	2,60
	J	450	416	433	17	0,67
	St	465	630	548	83	12,56
	NS	466	433	450	16	0,57
	ES	9	11	10	1	0,10
						$\chi^2 = 55,14$

Aus den Reifungskurven der Knochenmarkkulturen bis 72 Stunden (Abb. 3 bis 16) kann folgendes entnommen werden:

ERYTHROPOESE:

Bei der roten Reihe zeigen die bestrahlten 24-Stunden-Kulturen wie bei den Kontrollpräparaten eine ausgeprägte Verminderung aller unreifen roten Vorstufen unter relativer Zunahme der reifen mit Ausnahme von 3 Fällen (3,4,7), bei denen die polychromatischen und oxyphilen vermehrt sind. Hierbei handelt es sich um Knochenmark von Patienten mit hyperchromen Anaemien. Der $\dot{\chi}$-Wert wird durch diese Veränderungen am stärksten beeinflusst. Nach 48 Stunden sind bei 5 Fällen (2,3,4,6,7) weitere Verminderungen der unreifen Vorstufen bei Vermehrung der reifen zu erkennen. Der Einfluss der reifen auf den $\dot{\chi}$-Wert wird auch hier deutlich. In den bestrahlten 72-Stunden-Präparaten überwiegen in 4 Fällen die reifen ebenfalls.

GRANULOPOESE:

In den bestrahlten 24-Stunden-Präparaten der weissen Reihe findet sich im Vergleich mit den Kontrollkulturen in 5 Fällen (3,4,5, 6,7) eine signifikante relative Vermehrung der Promyelocyten bzw. der Myelocyten. Nach 48 Stunden ist die Myelocytenzahl wenig verändert, während die Promyelocyten durch die Bestrahlung vermindert sind. Das Verhältnis der Jugendlichen, Stabkernigen und neutrophilen Segmentkernigen hat sich kaum geändert. Die 72-Stunden-Präparate lassen in 4 Fällen (1,3,5,6) gegenüber den Kontrollkulturen eine Vermehrung der Myelocyten deutlich werden. Die Promyelocytenzahlen sind wenig verändert, desgleichen die Zahlen der übrigen Zellen der weissen Reihe.

Eine Zusammenfassung der Reifungskurven, die alle 7 Fälle erfasst, zeigen die Abbildungen 17 und 18 (S. 46).

ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE:

1. In der Erythropoese finden sich in den bestrahlten Kultruen keine Mitosen. In der Granulopoese zeigt sich eine besonders nach 24 Stunden hochgradige Verminderung der Mitose-Indices in allen bestrahlten Kulturen.

2. Die karyologische Kurve der Granulopoese zeigt keine Hemmung einer Mitosephase durch die Bestrahlung.

3. Die G/E-Indices weisen keine übereinstimmenden Veränderungen durch die Bestrahlung auf. Lediglich nach 72 Stunden sind die Erythroblasten in den bestrahlten Kulturen stärker reduziert.

4. Die Reifungskurven der Erythropoese lassen keine einheitlichen Veränderungen der Reifung durch Röntgenstrahlen erkennen. Die Mittelwertkurve weist nur nach 48 Stunden eine signifikante Reifungsbeschleunigung auf. Aus den Reifungskurven der Granulopoese ergibt sich eine Verzögerung der Reifung nur in 2 Fällen. Die Mittelwertkurve zeigt erst nach 72 Stunden eine Verzögerung der Reifung. Der χ^2-Wert ist nach 48 und 72 Stunden signifikant.

DISKUSSION

Über den Einfluss von Röntgenstrahlen auf die Proliferation von humanem Knochenmark in Kulturen ist bisher wenig gearbeitet worden. Erst Versuche von BOLL, KOPPE, SCHAAF und TRAUTMANN [4,5,6,7] sowie OSGOOD [21,22] befassen sich mit dem Effekt der ionisierenden Strahlen auf die Regeneration. Hier soll nun die Wirkung ionisierender Strahlen (γ-Strahlen aus dem Betatron) auf die Proliferation erstmals anhand der Parameter Reifungskurve, Mitose-Index, G/E-Index und karyologische Kurve dargestellt werden.

Betrachten wir zuerst den direkten Einfluss von Röntgenstrahlen auf die Mitose-Indices, so zeigt sich bei der Bestrahlung mit 400 r übereinstimmend eine Verminderung der Mitose-Indices sowohl in der Erythropoese als auch in der Granulopoese. In der Erythropoese finden sich bei uns in den bestrahlten Kulturen keine Mitosen mehr, was über die Ergebnisse von Untersuchungen von BOLL und KOPPE [7] hinausgeht, bei denen die ersten fassbaren Ergebnisse im Mitoseablauf bei Bestrahlungen mit 200 r auftraten, aber auch nach 1.000 r noch vereinzelt Mitosen vorkamen. Allerdings sind in unseren Kontrollen auch sehr wenige Mitosen zu finden. Im Gegensatz zu unseren Versuchen, bei denen in autologem Plasma mit Cerhormon gezüchtet wurde und die Bestrahlung der Knochenmarkproben in den ersten 3 Stunden nach der Knochenmarkentnahme stattfand, legten BOLL und KOPPE die Kulturen mit Hühnerembryonalextrakt und Hühnerplasma an und bestrahlten 21 bis 30 Stunden nach Anlegen mit einem konventionellen Röntgengerät, also zu einem Zeitpunkt, bei dem sich die Kultur in voller Aktivität befand. ASTALDI, MAURI und GUGLIELMO [1] fanden schon bei Bestrahlungen mit 50 r einen deutlich hemmenden Effekt auf die Mitosehäufung in Knochenmarkkulturen, allerdings nach Anreicherung mit Colchicin. Eine Mitoseverminderung fand sich auch bei mit 250 bis 5.000 r bestrahltem Kaninchenknochenmark in vitro bei RACHMILEWITZ,

ROSIN, GOLDHABER und DOLJANSKI [27].

Die Mitose-Indices geben das Verhältnis von reifenden zu ruhenden Zellen an. Früher wurde aus der Verminderung der Mitose-Indices auf eine verlängerte Interkinesedauer geschlossen. Da sich der Mitose-Index aber aus Interkinese- und Mitosedauer zusammensetzt, muss eine verringerte Mitosezahl nicht unbedingt auf eine verlängerte Interkinesedauer schliessen lassen. BOLL und FUCHS [6] fanden die Senkung des Mitose-Index in der Erythropoese unter Röntgenbestrahlung teils als Folge der Verkürzung der Mitosedauer, also einer Reizwirkung der Röntgenstrahlen, während in der Granulopoese die Verminderung des Mitose-Index auf eine verlängerte Interkinesedauer zurückgeführt wurde.

Unsere karyologischen Kurven lassen in anbetracht der wenigen Mitosen einen brauchbaren Schluss auf die Mitosephasenverteilung nicht zu. Die Kurven der Granulopoese zeigen keine Hemmung einer Mitosephase durch die Bestrahlung. Das Fehlen der Prophasen in den bestrahlten Kulturen kann darauf zurückgeführt werden, dass diese Phasen infolge ähnlicher Veränderungen an den Ruhekernen nicht zu erfassen waren. Deshalb kann ein Vergleich mit den Ergebnissen von BOLL, KOPPE, SCHAAF und TRAUTMANN [7], die in den bestrahlten Kulturen überwiegend Endphasen fanden, während in den Kontrollen die Prophasen, frühen und späten Metaphasen überwogen, nicht durchgeführt werden.

In unseren Versuchen zeigen die G/E-Indices unter der Bestrahlung keine einheitlichen Veränderungen, sodass danach beide Reihen gleichermassen durch die Bestrahlung beeinflusst werden. Lediglich die Erythroblasten sind nach 72 Stunden in den bestrahlten Kulturen stärker reduziert.

Betrachten wir den direkten Einfluss von Röntgenstrahlen auf die Reifung der Erythropoese (Abb. 17, S. 45), so finden wir bei den mit 400 r bestrahlten Kulturen sowohl nach 24 als auch nach 48 Stunden

eine signifikante Dezimierung der unreifen Formen, während die reifen Erythroblasten relativ vermehrt sind. Die Ausreifung der Erythroblasten wird nach 48 Stunden durch die Bestrahlung verstärkt.

Unsere Untersuchungen sollen Aufschluss darüber geben, ob die Reifung infolge verminderter Regeneration verzögert ist. Die Abhängigkeit der Reifung von der Regeneration beschreibt BOLL (4) in ihrer Monographie. Das morphologische Substrat für die Regeneration ist die Mitose, ihr Parameter der Mitose-Index, der ihr Verhältnis zur Interkinese angibt. Bei der Reifung unterscheidet man eine während der Regeneration von einer Reifungsklasse zur nächsten und eine nach der letzten Mitose. Nur erstere könnte durch die Mitoseverhinderung der γ-Strahlen irritiert werden.

Die durch die Bestrahlung auftretende Verminderung der Mitosehäufigkeit in der Erythropoese beeinträchtigt die Reifung zumindest nach 24 und 48 Stunden nicht im Sinne einer Reifungsverzögerung, sodass man annehmen muss, dass die Reifung auch ohne Mitose weitergeht. Durch die Verhinderung der Mitosen scheint besonders die Zahl der sich häufig teilenden basophilen Erythroblasten reduziert zu sein.

In der Granulopoese greifen die Röntgenstrahlen in der Interkinese an und verlängern diese dem herabgesetzten Mitose-Index nach. Nach den karyologischen Kurven (Abb. 2, S. 22) beeinflussen sie den Mitoseablauf nicht. Eine geringe Reifungsbeschleunigung findet sich nur nach 48 Stunden (Abb. 18, S. 45). Während sich nach 24 Stunden die Mittelwerte der bestrahlten Kulturen nur wenig von den Kontrollen unterscheiden, ist nach 72 Stunden eine mässige Reifungsverzögerung zu erkennen. Die signifikanten Abweichungen der Einzelversuche gleichen sich bei der Mittelung wieder aus. Wie in der Erythropoese führt auch in der Granulopoese die Bestrahlung trotz Verminderung der Mitosehäufigkeit nach 24 und 48 Stunden nicht zu einer Reifungsverzögerung, sodass fest-

gestellt wird, dass auch in der Granulopoese die Reifung ohne Regeneration vonstatten gehen kann.

ZUSAMMENFASSUNG

Diese Arbeit soll Aufschluss über den direkten Einfluss von Röntgenstrahlen auf die Proliferation - Regeneration und Reifung - des Knochenmarks in vitro geben. Bestrahlt wurde einzeitig mit γ-Strahlen aus dem Betatron mit einer Dosis von 400 r. Nach Differentialzählungen bis 72 Stunden wurden Reifungskurven und karyologische Kurven aufgestellt, Mitose- und G/E-Indices ermittelt. Bei der gewählten Dosis wurde die Mitosehäufigkeit (Mitose-Index) stark herabgesetzt und die Reifung nicht wesentlich beeinträchtigt.

Die Auswertung der Ergebnisse lässt sowohl in der Erythropoese als auch in der Granulopoese erkennen, dass die Reifung auch ohne Regeneration vonstatten gehen kann. Eine zwangsläufige Korrelation zwischen Reifung und Regeneration scheint nicht zu bestehen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ASTALDI, G., C. MAURI e L. di GUGLIELMO: L'effette delle radiazione Roentgen sulla proliferazione degli eritroblasti. Richerche sul midollo osseo umano sopravvivente. Haematologica (Pavia) 34, 529-560 (1950).

2. BAUER, R.: Untersuchungen über die Einwirkungen unterschiedlich verabfolgter Röntgenstrahlen auf das Knochenmark und seine Zellelemente, zugleich ein Beitrag zum Zeitfaktorproblem. Strahlentherapie 67, 424-501 (1940).

3. BOHN, G.: Comptes rendus hebdomadaires des seánces de L'academie des sciences - Paris 136, 1012 und 1085 (1903).

4. BOLL, I.: Granulocytopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. 91-95. Experimentelle Medizin, Pathologie und Klinik. Band 17. Springer Verlag 1966.

5. BOLL, I.: Weitere Untersuchungen über die Einwirkung von Röntgenstrahlen auf Knochenmarkzellen in vitro. Haemat. lat. I, 171 (1958).

6. BOLL, I. und G. FUCHS: Vereinfachtes Verfahren zur kurzfristigen Kultivierung von menschlichem Knochenmark in vitro. Blut 7, 257 (1961).

7. BOLL, I., M. KOPPE, J. SCHAAF und J. TRAUTMANN: Quantitative und qualitative Veränderungen an röntgenbestrahlten Knochenmarkkulturen. Strahlentherapie 100, 445 (1956).

8. DUSTIN, A. P.: Etude comparative entre l'action des radiations et l'actions des poisons caryoclasiques. Strasbourg-méd. (pt. 1) 85, 12-23 (1927).

8a. DUSTIN, A. P.: Nouvelle contribution á l'étude radiobiologique des epithéliomas du col utérin soumis á la telecuriethérapie.

Les courbes de pycnoses, de mitosis normales et mitosis atypiques. Cancer, Bruxelles 4, 387-430 (1927).

8b. DUSTIN, A. P.: Recherches sur L'actions des poisons caryoclasiques sur les tumeurs malignes. Action du bleu d'isamine VI B. Bull. Acad. roy. de méd. de Belgique 10, 19-43 (1930).

9. DUSTIN, A. P. et M. PITON: Études sur les poisons caryoclasiques. Les actions cellulaires declenchées par les composés arsenicaux. Bull. Acad. roy. de méd. de Belgique 9, 26-35 (1929).

10. FLIEDNER, T. M., E. P. CRONKITE and V. P. BOND: Structural cytological and autoradiographic (H3-Thymidine) changes in bone marrow following body irradiation. Am. J. Path. 38, 599 (1961).

11. FLIEDNER, T. M., E. P. CRONKITE, V. P. BOND and G. ANDREWS: Mitotic activity and cytology of human bone marrow after accidental exposure to ionising radiation. VII. Congr. Europ. Haematol. London (1959).

12. FLIEDNER, T. M. und STODTMEISTER: Experimentelle und klinische Strahlenhaematologie. Monographie. J. F. Lehmanns Verlag (1962).

13. FUCHS, G. und I. BOLL: Unterschiedliche Strahlenwirkungen auf die Erythropoese und Leukopoese in vitro. Verhandlungen des 8. Kongresses der europäischen Gesellschaft für Haematologie, 339 (Wien 1961).

14. FROLA, G.: Effecti dell' irradiazione con raggi roentgen sul quadro emetologico degli animali splenectomizzati. Bull. Soc. ital. biol. spez. 4, 647 (1929), Act. Biol. 7, 3 (1931).

15. GREGORI, A.: Wirkung von Röntgenstrahlen auf das Knochenmark in

vivo und in vitro. Strahlentherapie 65, 163 (1939).

16. HALBERSTAEDTER, L. und A. SIMONS: Die Wirkung der Radium-, Katheden-, Röntgen- und Lichtstrahlen auf die blutbildenden Organe und das Blut. In Hdb. d. allg. Hämatologie von Hirschfeld und Hittmaier. Verlag Urban & Schwarzenberg. (Berlin und Wien 1933).

17. HAMPERL, H. und G. SCHWARZ: Zur genaueren Kenntnis der Röntgenwirkung auf Krebsgeschwülste. Strahlentherapie 24, 607-659 (1927).

18. HARTWEG, H.: "Strahlenpathologie der Zelle", Kapitel "Strahlenwirkung auf Zellen lebenswichtiger Organe", 134 (1963).

19. JUUL, J. und K. KEMP: Über den Einfluss von Radium- und Röntgen strahlen, ultravioletten Licht und Hitze auf die Zellteilung bei warmblütigen Tieren. Studien an Gewebekulturen. Strahlentherapie 48, 457 (1933).

20. KRÖMECKE, C.: Über die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf die roten Blutkörperchen. Strahlentherapie 22, 608 (1926).

21. MILCHNER, R. und M. MOSSE: Zur Frage der Behandlung der Blutkrankheiten mit Röntgenstrahlen. Klin. Wsch. 1267 (1904).

22. OSGOOD, E.: Radiologic observations on human haemic cells in vivo and in vitro. 828-838 (1961).

23. OSGOOD, E. and G. BRACHER: Culture of human bone marrows studies of the Effect on Roentgen-rays. 245 (1961).

24. OSMOND, D. G., P. J. ROYLANCE, W. R. LEE, T. G. RAMSELL and J. M. YOFFEY: The Effect of Unilateral Limb Shielding on the Haemopoetic Response of the Guinea-Pig to Gamma Irradiation. Brit. J. Haemat. 12, 365 (1966).

25. PEKAREK, J.: Über den Einfluss von Röntgenstrahlen auf die Kern-

und Zellteilung bei Wurzelspitzen von Vicia faba. Planta, Arch. f. wiss. Bot., 299-357 (1927).

26. PERTHES, G.: Versuche über den Einfluss der Röntgenstrahlen und der Radiumstrahlen auf die Zellteilung. Dt. med. Wsch. 12-25 (1904).

27. POLITZER, G.: Pathologie der Mitose. Monographie. Verlag Gebrüder Bornträger, Berlin (1934).

28. RACHMILEWITZ, M., A. ROSIN, G. GOLDHABER and L. DOLJANSKI: The Effect of X-rays on the Mitotic Activity of explanted bone marrow. Proc. soc. Expec. Biol. Med. 59, 129-131 (1945).

29. SICILIANO, L. et C. B. BOUNAMICI: Studi sul midollo osseo sotto L'azione dei raggi. X. Arch. di radiol. 6, 1108 (1930).

30. TÖPPNER, R.: Wirkung der Röntgenstrahlen auf das Knochenmark. Ztschr. f. d. ges. exper. Med., Bd. 109, 399 (1941).

31. WISSENSCHAFTLICHE TABELLEN: Geigy, I. R., Basel (1955).

32. WÜNSCHE, H. W.: Fortlaufende Untersuchungen über den Einfluss der Röntgenstrahlen auf das Knochenmark. Arch. exper. Path. Pharmacol. 189, 581-599 (1938).

33. ZAK, M.: Zur Frage der mitotischen Veränderungen im Knochenmark der Mäuse nach Einzeit-Röntgen-Ganzkörperbestrahlung. 62 (1967).

Studie im Rahmen der Assoziation Haematologie EURATOM-GSF, Nr. 031- 64-1 BIAD.

Am Schluss dieser Arbeit sei es mir erlaubt, Frau Prof. Dr. med. I. Bell für die wertvollen Hinweise zur Bearbeitung des Themas, für die Unterstützung und Geduld zu danken.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. med. K. Helldack für die mir in seinem Hause zuteil gewordene freundliche Hilfe.

L E B E N S L A U F

Am 1. Oktober 1941 wurde ich, Detlef Werner Heinze, als Sohn des Kreisinspekters Werner Heinze und seiner Ehefrau Ursula, geb. Knopp, in Berlin geboren. Im Frühjahr 1942 siedelten wir nach Werneuchen über, wo ich von 1947 bis 1955 die Grundschule und von 1955 bis 1959 die Oberschule besuchte. Nach bestandenem Abitur studierte ich an der Humboldt-Universität zwei Semester Medizin. Nach der bestandenen Ergänzungsprüfung für Ostabiturienten an der Leibnizschule in Berlin-Kreuzberg verliess ich 1961 die DDR.

Seit dem Wintersemester 1961 studierte ich an der Freien Universität Berlin Human-Medizin, bestand im Sommer 1962 das Vorphysikum und im Frühjahr 1965 das Physikum. Das Medizinische Staatsexamen beendete ich im Oktober 1969.

Seit dem 1. Januar 1970 bin ich als Medizinalassistent tätig.